

# EXTENTIDOS DE SANGRE PERIFERICA

Víctor M.L. Morales \*

## INTRODUCCION:

El estudio de las extensiones de sangre periférica teñidas por el colorante de Wright constituye hoy día uno de los exámenes de base más solicitados en la práctica médica, tanto a nivel hospitalario como de clínicas, dispensarios de salud y servicios privados. Permite obtener variada información clínica sobre el paciente a quien se inician los estudios, así como en lo relativo a curso, tratamiento y pronóstico de pacientes con enfermedad conocida, por ejemplo anemias, trastornos leucocitarios, plaquetarios, etc. Con todo lo que esto significa, a menudo nos encontramos ante una extensión de sangre periférica y quizá pasamos por alto ciertos criterios fundamentales que exige la práctica hematológica; o bien, si observamos una determinada característica, no le damos la importancia que se merece. Por tanto, será necesario efectuar, en el momento de observar la morfología de una muestra determinada, una revisión mental del hallazgo morfológico completo, es decir, tomando en cuenta todas las posibles variables, tanto morfológicas como de estimación cuantitativa. La presente revisión tiene como objeto presentar una discusión sobre la naturaleza de este trabajo y sobre cómo efectuarlo concienzudamente.

## DISCUSION:

Trabajando en la mejor forma, encontramos que es conveniente estandarizar y controlar la ejecución de las extensiones, su fijación, tinción, secado y finalmente la observación microscópica de las preparaciones (6,13,18). Es de primordial importancia una buena preparación y maduración del colorante de Wright

que habrá de usarse, de forma que sean patentes los tonos de color o la morfología de los componentes celulares sin variaciones artificiales, que puedan inducir a errores diagnósticos u observaciones imprecisas. (22). El PH del amortiguador es de suma importancia con el fin de obviar los inconvenientes de precipitaciones o variaciones cromáticas (3,7). La grasa o detritos en las laminillas pueden ser extraídos debidamente con el uso de soluciones ácidas, por ejemplo el ácido nítrico o la mezcla de ácido sulfúrico y oxidantes (mezcla sulfocrómica). Existen diversos métodos para llevar a cabo un buen mantenimiento de las laminillas de uso en el laboratorio de hematología (19,20,21). Como es sabido, en una buena tinción de un extendido de grosor medio, éste presentará un tono anaranjado a contraluz, asimismo los eritrocitos exhibirán similar tono al examen microscópico; los núcleos de los glóbulos blancos serán consistentes y presentarán un color azul púrpura, de forma que su cromatina sea bastante aparente. Variaciones de estos detalles redundarán en apreciaciones de la morfología tanto deficientes como artificiales ( 19, 20 ).

Al momento de estimar la citología hemática, y una vez que han quedado satisfechas las exigencias de grosor, tinción y distribución celular, es norma convencional observar la zona intermedia entre cabaza y cola de la extensión, donde se espera que haya siempre representatividad numérica y morfológica. Pero a menudo ocurre que se efectúa el conteo de número y tipo de leucocitos, olvidando posibles hallazgos de suma importancia diagnóstica y clínica (2, 11, 15, ). A este respecto Brunstein y Tull, hacen notar que esta actitud pasiva en el estudio de los frotis les ha llevado a pasar por alto parásitos de malaria en uno de cuatro casos atendidos en un centro médico de California, E.U. (4). En nuestro país cabe esperar más casos

---

\* M.Q.C. Hospital de Turrialba William Allen.

insospechados, si se toma en consideración el carácter de mayor incidencia que presenta dicha enfermedad en nuestra zona. Es interesante hacer notar, de acuerdo con Hunter y colaboradores, que el *Plasmodium vivax*, por su afinidad hacia los reticulocitos, presenta parasitemias de 8.000 a 20.000 por  $\text{mm}^3$ , con un máximo de 50.000 por  $\text{mm}^3$ . Por otro lado, se ha calculado mediante computación de estadísticas, que al hacer un conteo diferencial de 100 leucocitos en una extensión estándar normal, se habrán visualizado 100.000 eritrocitos, con lo cual, y acomodando este dato a una parasitemia por *P. vivax*, habría al menos un parásito en uno de cada 250 a 600 eritrocitos. De este modo, resulta excelente la probabilidad de hallar parásitos de malaria en el conteo diferencial de un frotis de sangre periférica. Tratándose de parasitemias por *P. malariae*, el dato es similar, y por *P. falciparum*, la probabilidad, como se comprende, será mucho mayor (4,9).

En las zonas de Norte América y Europa se han puesto en práctica métodos automáticos de conteo de células de la sangre, mediante reconocimiento electrónico de estructuras y colores de leucocitos, eritrocitos y plaquetas. Estos métodos presentan ventajas en cuanto a simple cómputo de los elementos. Pero debe tenerse en cuenta que estos aparatos, por lo demás de alto costo y mantenimiento, trabajan bien solo con patrones estándar de distribución celular y tinción, y para ello requieren aparatos igualmente automáticos para extender, teñir y secar las muestras. No ofrecen información confiable sobre morfología celular o hallazgos diagnósticos importantes, (4, 8, 22) aunque la automatización y control de fases sea completa. Así pues, se debe tener presente que nada sustituye actualmente al reconocimiento conciente y cuidadoso del frotis sanguíneo. Es importante ordenar temáticamente los posibles hallazgos clínicos, y al menos tener en mente el tipo de paciente con que se cuenta o su diagnóstico presuntivo. Se dice que la probabilidad de detectar anomalías hemáticas incipientes, por ejemplo anemia perniciosa, se incrementará si son calculadas con exactitud las cifras o índices hematimétricos, o sean, la Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM); la Hemoglobina Corpuscular Media (HCM) y el Volumen Corpuscular Medio (VCM) (18, 21). Pero nos resulta evidente que un número significativo de trastornos de leucocitos,

eritrocitos y otros elementos, solo puede detectarse por el estudio morfológico concienzudo de los frotis hemáticos. El individuo ideal para realizar esta práctica es, a todas luces, el microbiólogo estudioso o especialista en hematología. A continuación (tabla 1) se presentan una serie de enfermedades en las que los índices eritrocíticos pueden estar normales, pero que el estudio de las extensiones de sangre periférica, teñidas por Wright, sugerirá la naturaleza del problema.

TABLA 1

IMPORTANCIA CLINICA DE CIERTOS VALORES MORFOLOGICOS	
(Frotis teñidos por Wright) *	
ENTIDAD	HALLAZGOS FRECUENTES
Agranulocitosis	neutropenia y linfocitosis relativa
Anemia hemolítica adquirida	esferocitos, policromatofilia y eritroaglutinaciones.
Anemia perniciosa incipiente	megalo y macrocitos, macropolicitos, anisoplaquetas, cuerpos de Howell Jolly, pancitopenia.
Deficiencia de hierro	microcitos hipocrómicos, anisopoiquilocitosis, células bastón.
Eliptocitosis	población amplia de eliptocitos
Enfermedad de la Hemoglobina C.	abundancia de células en diana
Esfereocitosis hereditaria	esferocitos, policromatofilia, normocromia con apariencia hiperocrómica.
Hemólisis mecánica	esquistocitos, células de Burr
Hemorragia aguda	policromatofilia, leucocitosis y quizá trombocitosis.
Hepatopatías	macrocitos redondos normocromicos, células en diana.
Infección severa	neutrofilia con bandas, neutrófilos tóxicos, vacuolizados.
Intoxicación plúmbica	punteado basófilo, policromatofilia.
Leucemia aguda temprana	blastos, trombocitopenia, anemia normocítica normocromica.
Leucemia linfocítica crónica	linfocitosis relativa.
Macroglobulinemia	ruleaux, linfocitos plasmocitoides.

\* De Williams et al: Hematology, (20) con algunas adiciones.

Malaria	parásitos, quizá leucopenia con desviación a la izquierda.
Mielofibrosis con metaplasia mielóide extramedular	leucoeritroblastosis, trombocitos grandes y raros.
Mieloma múltiple	rouleaux, plasmocitos y plasmoblastos en fase leucémica.
Mononucleosis infecciosa	linfocitosis con linfocitos atípicos (virolinfocitos)
Rasgo talasémico	hipocromía, células en diana, anisopoiquilocitosis, punteado-basófilo.
Reacciones alérgicas	eosinofilia absoluta y relativa
Patología de coagulación o coagulopatía consuntiva*	esquistocitos, células de Burr.

\* Toda diátesis hemorrágica resultante de trastornos en factores plasmáticos de la coagulación.

La observación morfológica, dada su naturaleza subjetiva y cualitativa, constituye la mayor fuente de errores y desacuerdos en Hematología. En estudios realizados sobre la certidumbre y confiabilidad de apreciaciones morfológicas en un amplio sector de analistas especializados en Hematología en un amplio sector de analistas especializados en Hematología, Bacus (1) y Fairbanks (6) encontraron interesantes resultados. El segundo autor comprobó que en un 22% de sesenta y dos casos de anemia por deficiencia de hierro, hematólogos experimentados habían cambiado su punto de vista cuando sin, saberlo, reexaminaron los mismos frotis sanguíneos. La certidumbre y confiabilidad del trabajo que se efectúe en un laboratorio de Hematología al estimar la morfología de los elementos celulares, depende altamente de la estandarización que se lleve a cabo en la recolección de muestras, la preparación de las mismas y la recolección y evaluación de los datos. A este respecto, Rajamaki (17) y otros (5,10,13) recomiendan un programa de control de calidad en el que se lleven a cabo evaluaciones periódicas durante un lapso de tiempo (varios meses, o un año) en base a muestras controles bien conocidas. Para este efecto, se utilizan frotis controles que se envían para su análisis a los diferentes equipos de trabajo, conjuntamente con una fórmula de recolección de datos (tabla 2). Al hacer esto en distintas oportunidades, se puede evaluar el rendimiento o confiabilidad, de forma que, al comparar los resulta-

dos expresados contra un patrón resuelto específico, podrán deducirse las necesidades reales de educación continuada y mejoramiento. Por ejemplo, se puede tomar como un trabajo aceptable o confiable aquel que acierte un 80% de los hallazgos especificados en el formulario patrón. Así se podrá evidenciar la calidad y confiabilidad en las apreciaciones de la morfología sanguínea, de modo que si un individuo o equipo de trabajo mantiene en varias ocasiones un rendimiento cercano a 80% y luego desciende su porcentaje de acierto, se debiera estudiar la causa de esa deficiencia y corregirla por medio de orientación educativa al respecto, sea en el aspecto técnico o en el científico, o en ambos de ser necesario. Se desprende de lo anteriormente expuesto, que es imperativo dispensar mayor atención a las evaluaciones de los frotis sanguíneos, tanto en lo referente a su preparación y estudio, como en lo relativo al control de la calidad de las mismas.

TABLA 2

FORMULA PARA RECOLECCION DE DATOS	
<b>A. ERITROCITOS</b>	
<b>ARREGLO</b>	
( )	- en rango normal
( )	- anormal
( )	- formación de rouleaux
( )	- autoaglutinación
<b>TAMAÑO</b>	
( )	- en rango normal
( )	- anormal
( )	- macrocitos
( )	- microcitos
<b>FORMA</b>	
( )	- en rango normal
( )	- anormal
( )	- dilitocitos, ovalocitos o células en cigarro
( )	- células en lágrima
( )	- esferocitos
( )	- esquistocitos
( )	- otros, cuáles?
<b>CONTENIDO DE HEMOGLOBINA</b>	
( )	- en rango normal
( )	- anormal

- ( ) - hipocromía
- ( ) - hiperocromía
- ( ) - anisocromía
- ( ) - células diana
- ( ) - otras, cuáles ?

**SIGNOS DE INMADUREZ**

- ( ) - no reconocibles
- ( ) - reconocibles
  - ( ) - policromasia
  - ( ) - punteado basófilo
  - ( ) - eritroblastos

**CUERPOS INTRACELULARES**

- ( ) - no reconocibles
- ( ) - reconocibles
  - ( ) - cuerpos de Howell-Jolly
  - ( ) - cuerpos de Pappenheimer
  - ( ) - otros, cuáles ?

**B.- LEUCOCITOS**

**ESTIMACION DEL NUMERO**

- ( ) - en rango normal
- ( ) - anormal
  - ( ) - elevado
  - ( ) - disminuído

**RECUENTO DIFERENCIAL ESTIMADO**

- ( ) - en rango normal
- ( ) - anormal, cómo ?

**MORFOLOGIA DE NEUTROFILOS**

- ( ) - en rango normal
- ( ) - anormal
  - ( ) - núcleos hipersegmentados
  - ( ) - "desvío a la izquierda"
  - ( ) - blastos leucémicos
  - ( ) - granulación tóxica
  - ( ) - vacuolas o inclusiones citoplásmicas.

**MORFOLOGIA DE LINFOCITOS**

- ( ) - en rango normal
- ( ) - anormal
  - ( ) - linfocitos reactivos; p. ej:
    - atípicos o inmunoblastos
  - ( ) - blastos leucémicos
  - ( ) - vacuolas o inclusiones citoplásmicas

**MORFOLOGIA DE MONOCITOS**

- ( ) - en rango normal
- ( ) - anormal, cómo ?

**C.- PLAQUETAS**

**ESTIMACION DEL NUMERO**

- ( ) - en rango normal
- ( ) - anormal
  - ( ) - elevado
  - ( ) - disminuído

**TAMAÑO Y FORMA**

- ( ) - en rango normal
- ( ) - anormal, cómo ?

**RESUMEN:**

Nota bibliográfica y crítica en la que se presenta una revisión breve de métodos y consideraciones clínicas atinentes al examen del frotis de sangre periférica por tinción de Wright o derivados del Romanowsky. Se presentan observaciones sobre malos procedimientos y errores en esta área de trabajo. Asimismo se incluye una tabla conteniendo la importancia clínica de ciertos valores morfológicos comúnmente encontrados en la práctica. Se esbozan finalmente algunas recomendaciones para la práctica de un posible programa de control de calidad en el diagnóstico morfológico de las extensiones de sangre.

**SUMMARY:**

A bibliographic and critical study about the periferal blood extension is presented. The methodologic and clinical basis of a comprehensive study of the blood extension stained by Wright or the Romanowsky derivatives is regarded. Many common wrong procedures and mistakes are remarked, and a table containing the clinical significance of the most frequent morphological values is added. The standardization of technical procedures and data recolection is recommended, as well as the possibility of setting a quality control program in the morphological diagnoses of the blood smear.

**BIBLIOGRAFIA:**

- 1.- Bacus, J.W. The observer error in the periferal blood cell classification. *Am J. Clin. Pathol.* 59:223, 1973.
- 2.- Ballcels, A. La clínica y el laboratorio. Ed. Marín, Décima Edición Barcelona España, 1974.

- 3.- Bentley, S.A. y cols. Standardization of the Romanowsky staining procedure: an overview. *Annal. Quant. Cytol.* 2(1): 15-8, Mar-Apr 1980.
  - 4.- Braunstein, H. y cols. Detection of malarial parasites y routine Wright stained blood smears. *Am J. Clin. Path.* 74(2):227-9. Aug. 1980.
  - 5.- The CAP survey manual. College of American Pathologists. Chicago, 1976.
  - 6.- Fairbanks, V.F.: Is the periferal blood film reliable for the diagnoses of iron deficiency anemia? *A.J. Clin. Path.* 55:447, 1971.
  - 7.- Guilliland, J.W. y cols. Stabilized Romanowsky blood stain. *Stain Technol.* 54(3): 141-50. May 1979.
  - 8.- Holzknecht, F. The normal values of trombocytes. Comparison of a direct with an indirect counting method. *Wien. Z. Inn. Med.* 44:314-7 Jul. 1973 (Ger).
  - 9.- Hunter, G.W. y cols. Tropical Medicine. Fifth Edition. Phil. W. Saunders Co. Pag. 900. 1976.
  - 10.- Instand-Ringversuche Laitfaden. Deutsche Gesellschaft fur Laboratoriumsmedizin. E.V. & Deutsche Gesellsft fur Haematologie. Academic Press, Co London, 1975.
  - 11.- Kohn, J.H. Haematology problem. *Am. J. Med. Technol.* 56(12):1018-9. Dec. 1979.
  - 12.- Lewis, S.M. y cols. Effects of anticoagulants and containers (glass and plastic) on the blood count. *Lab. Practice* 20:787-92. Oct. 1971.
  - 13.- Lewis, S.M. and Coster, D.F. (eds) Q.C. in Haematology. The Quality Control Program of the College of Amer. Path., pag 53. Academic Press, Co., London, 1975.
  - 14.- Luthy, P. y cols. Blood samples. *Lancet* 1(2):159. Jan. 1960.
  - 15.- Luthy, P. y cols. Blood picture changes in patients hospitalized in an internal medical dept. *J.A.M.A.* 23:156-8. 1969.
  - 16.- Pinheiro, P. y cols. Standardized heat fixation for blood smears. *Stain Technol.* 38:227-9. 1963.
  - 17.- Rajamaky, A. External quality control in haematological morphology: a method to assess the performance of an individual laboratory and changes in it. *Scand J. Clin. Path. Lab. Invest.* 40 (1): 79-84. Feb. 1980.
  - 18.- Rappaport, S.I. Introducción a la Hematología. Salvat Editores. S.A. Reimpresión de la I Ed. Barcelona, España. 1977.
  - 19.- Sáenz, G.F. y cols. Hematología Teórico-Práctica. Vol. 1 Sexta Edición. Parte de morfología. Ed. U.C.R., San José, Costa Rica, 1977.
  - 20.- Williams, W.J. y cols. Haematology. Mc. Grau Hill Co. Ed. 1972.
  - 21.- Wintrobe, M.M. y cols. Clinical Haematology. Lea & Febiger Eds. pag 27. 1974.
  - 22.- Wortman, J. Artifacts in periferal blood films (letter) *J.A.M.A.* 241 (8):792. 23 Feb. 1979.
  - 23.- Workbakch, M. y cols. An evaluation of blood smears made by a new method using a spinner and diluted blood. *Am.J. Clin. Path.* 70(6):1243-8 Dec. 1978.
-